

1/9/1

DIALOG(R)File 347:JAPIO

(c) 2005 JPO & JAPIO. All rts. reserv.

06344851

MEDICINE FOR OSTEOMYELODYSPLASIA SYNDROME

PUB. NO.: 11-286455 [ JP 11286455 A]  
PUBLISHED: October 19, 1999 (19991019)  
INVENTOR(s): ARIMA NAOMICHI  
ARIMURA MITSUO  
APPLICANT(s): KANEBO LTD  
ARIMA NAOMICHI  
ARIMURA MITSUO  
APPL. NO.: 10-105793 [JP 98105793]  
FILED: March 31, 1998 (19980331)  
INTL CLASS: A61K-045/00; A61K-031/165; A61K-031/44

ABSTRACT

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject medicine for improving hematopenia accompanied by osteomyelodysplasia syndrome by adding a matrix metalloprotease inhibitor, a TNF- $\alpha$  transferase inhibitor and a Fas ligand solubilization inhibitor as active ingredients.

SOLUTION: This medicine contains a matrix metalloprotease inhibitor, a TNF- $\alpha$  transferase inhibitor and/or a Fas ligand solubilization inhibitor (for example, [4-(N-hydroxyamino)-2(R)-isobutyl-3-methylsuccinyl]-L-3-(5,6,7,8-tetrahydro-1-naphthyl)alanine-N-methylamide) as active ingredients. The medicine is preferably used for hypocytosis recognized in refractory anemia, sideroblastic refractory anemia, refractory anemia accompanying the increase of gemmules, etc. The medicine is orally or parenterally administered into patients. The medicine is administered at a daily dose of 1-600 mg converted to the active ingredient with one, two, three or four portions.

COPYRIGHT: (C)1999, JPO  
?

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-286455

(43) 公開日 平成11年(1999)10月19日

(51) Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	F I
A 6 1 K 45/00	A E D	A 6 1 K 45/00
31/165	A B Y	31/165
// A 6 1 K 31/44		31/44

審査請求 未請求 請求項の数4 F D (全 5 頁)

(21) 出願番号 特願平10-105793

(22) 出願日 平成10年(1998) 3月31日

(71) 出願人 000000952

鐘紡株式会社

東京都墨田区墨田五丁目17番4号

(71) 出願人 598050856

有馬 直道

鹿児島市桜ヶ丘3丁目9番地2

(71) 出願人 598050867

有村 光生

鹿児島市下荒田4丁目32番18号(森永方1 F)

(72) 発明者 有馬 直道

鹿児島市桜ヶ丘3丁目9番地2

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 骨髓異形成症候群治療薬

(57) 【要約】

【構成】マトリックスメタロプロテアーゼ阻害薬、TNF- $\alpha$ 転換酵素阻害薬および/または Fas リガンドの可溶性抑制薬を有効成分とする骨髓異形成症候群(MDS)治療薬。

【効果】マトリックスメタロプロテアーゼ阻害薬、TNF- $\alpha$ 転換酵素阻害薬または Fas リガンドの可溶性抑制薬は、MDS患者の骨髓細胞のアポトーシスを強く抑制するので、これらを有効成分とする薬剤はMDS治療薬として有用である。

【特許請求の範囲】

【請求項1】マトリックスメタロプロテアーゼ阻害薬、 $\text{TNF}-\alpha$ 転換酵素阻害薬および/またはFasリガンドの可溶化抑制薬を有効成分とする骨髓異形成症候群治療薬。

【請求項2】マトリックスメタロプロテアーゼ阻害薬を有効成分とする請求項1の骨髓異形成症候群治療薬。

【請求項3】 $\text{TNF}-\alpha$ 転換酵素阻害薬を有効成分とする請求項1の骨髓異形成症候群治療薬。

【請求項4】Fasリガンドの可溶化抑制薬を有効成分とする請求項1の骨髓異形成症候群治療薬。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】マトリックスメタロプロテアーゼ（以下、MMP）とは、結合組織マトリックスを構成するタンパク成分を分解する酵素であり、MMPを阻害する化合物は、関節炎、骨粗鬆症等の結合組織疾患の治療剤（MMP阻害薬）として開発が期待されている。

【0002】一方、MMPと類似のメタロプロテアーゼが生体内で種々のプロセッシングに関与していることが明らかにされてきた。

【0003】例えば、腫瘍壊死因子（ $\text{TNF}-\alpha$ ）（17kD）が細胞表面に存在する前駆体（26kD）からある種のメタロプロテアーゼ（ $\text{TNF}-\alpha$ 転換酵素、TACE）により切り出されて生成することが明らかにされた【Mohler他、Nature、370、218-220(1994)】。

【0004】また、アポトーシスについて、Fasのリガンド（FasL）がある種のメタロプロテアーゼ（Fasリガンド可溶化酵素）によって可溶化されて可溶性FasLとなり、Fasと結合した結果細胞死が引き起こされるというメカニズムが提案されている【Koyagaki他、J.Exp.Med.、182、1777-1783(1995)】。

【0005】一方、骨髓異形成症候群（以下、MDS）とは、原因不明の造血幹細胞レベルの障害に起因する骨髓造血細胞の成熟障害がもとなり、骨髓細胞の形態異常（ミエロディスプラシア；myelodysplasia）や骨髓低形成に因らない血球減少を来す疾患である。MDSの予後は非常に悪く平均生存率は診断から2年程度である。

【0006】本発明は、前記のMMP阻害薬、TACE阻害薬および/またはFasリガンド可溶化酵素の阻害薬を有効成分とするところのMDS治療薬に関する。

【0007】

【従来の技術】MDSの治療は赤血球減少に伴う貧血、血小板減少に伴う出血傾向、あるいは顆粒球減少に伴う感染の防御を目的として、血球減少の改善を目指した治療が行われている。ブレドニゾン、蛋白同化ホルモン、ビタミンD3、造血因子（サイトカイン）などの投与が血球減少の改善を目的として試みられているが、ほとんど効果が認められていない（小寺良尚、斉藤英彦監修、造血幹細胞移植マニュアル、日本医学館、1995年、

30ページ）。

【0008】最近、MDSの造血障害が骨髓細胞のアポトーシスに起因するとの考え方が注目されている。実際、アポトーシスを引き起こすFasリガンドおよびその受容体がMDS患者の骨髓細胞で増加しているとの報告がある【Blood、88(3)、1122(1996)】。また、アポトーシスを誘導することが知られている $\text{TNF}-\alpha$ 、インターロイキン（ $\text{IL}1\beta$ ）等のサイトカインがMDS患者で増加していることも報告されている【Raza他、Int.J.Hematol.、63、265(1996)】。かかる背景から、アポトーシスの抑制剤をMDS治療に用いる検討がなされており、ラザらは、ベントキシフィリン（前記サイトカインのシグナル伝達阻害剤）をMDS患者に投与して一定の効果を認めている【Raza他、Blood、88(Supple)、2310(1996)】。また、アポトーシス抑制作用を有するポリペプチドをMDS治療薬として用いる提案もなされている【PCT国際公開公報WO97/6255号】。

【0009】一方、MMP阻害薬がFasリガンドの可溶化を抑制することから、過度なT細胞の活性化に起因する疾患、例えば肝炎、移植片対宿主反応（GVHD）、自己免疫疾患等に対して、MMP阻害薬の治療用途（Fasリガンド可溶化抑制薬）が出願されている（PCT国際公開公報WO97/9066号）。また、いくつかのメタロプロテアーゼについて、TACE阻害薬、即ち、過剰な $\text{TNF}-\alpha$ により媒介される疾患（例えば炎症、急性感染症、ショック状態、GVHD等）の治療剤としての用途出願もなされている【PCT国際公開公報WO94/10990】。しかしながら、MDS患者の骨髓細胞のアポトーシスを抑制するメタロプロテアーゼ阻害薬は全く知られていない。

【0010】

【発明が解決しようとする課題】MDS患者の骨髓細胞は、健常人の骨髓細胞に比して脆弱で死滅しやすい事が知られている。即ち、MDS患者の骨髓細胞を取り出し24時間培養すると、60%程度がアポトーシスを起こして死滅することが観察され、このことがMDSにおける血球減少の一因と考えられる。本発明の目的は、MDSに伴う血球減少を改善する薬物を見い出し、MDS治療薬を提供することにある。

【0011】

【課題を解決するための手段】本発明者らは種々検討した結果、下記に示す化合物が、培養したMDS患者骨髓細胞のアポトーシスを強く抑制することを見い出し本発明を完成した。

【0012】

【発明の実施の形態】本発明は、MMP阻害薬、TACE阻害薬および/またはFasリガンド可溶化抑制薬を有効成分とする。本発明において使用できるMMP阻害薬、TACE阻害薬またはFasリガンド可溶化抑制薬としては、例えば下記の公報に記載されたメタロプロテ

アーゼ阻害薬を例示することができる。

【0013】特開平7-101925号

米国特許公報4743587号

国際公開公報WO92/09556号

同公報WO93/09090号

同公報WO93/24449号

同公報WO95/04033号

欧州特許公報489579号

同公報236872号

同公報497192号

同公報575844号

国際公開公報WO90/05719号

同公報WO94/21625号

同公報WO94/24140号

同公報WO94/02447号

特開平6-145148号

特開平7-157470号

国際公開公報WO97/20824号

同公報WO97/18194号

同公報WO96/33172号

同公報WO96/15096号

同公報WO95/13289号

特開平9-188631号

特開平7-291938号

特開平6-256293号

中でも好ましいのが下記の化合物である。

【0014】[4-(N-ヒドロキシアミノ)-2(R)-イソブチル-3(S)-メチルサクシニル]-L-フェニルグリシン-N-メチルアミド(特開平7-101925号)

[4-(N-ヒドロキシアミノ)-2(R)-イソブチル-3(S)-(2-チエニルチオメチル)サクシニル]-L-フェニルアラニン-N-メチルアミド(国際公開公報WO90/05719号)

3(S)-N-ヒドロキシ-4-(4-(ピリド-4-イル)オキシ)ベンゼンスルホニル)-2,2-ジメチル-テトラヒドロ-2H-1,4-チアジン-3-カルボキサミド(国際公開公報WO97/20824号)  
N<sup>1</sup>-[3(S)-ヒドロキシ-4-(N-ヒドロキシアミノ)-2(R)-イソブチルサクシニル]-L-tert-ロイシン-N<sup>1</sup>-メチルアミド(国際公開公報WO94/02447号)

本発明のMDS治療薬においては、FasLの可溶性抑制薬を有効成分とすることもできる。FasLの可溶性抑制薬としては、例えば、PCT国際公開公報WO97/9066号に記載された化合物を使用することができる。

【0015】中でも好ましいのが下記の化合物である。

【0016】[4-(N-ヒドロキシアミノ)-2(R)-イソブチル-3-メチルサクシニル]-L-3

-(5,6,7,8-テトラヒドロ-1-ナフチル)アラニン-N-メチルアミド

[4-(N-ヒドロキシアミノ)-2(R)-フェニルプロピルサクシニル]-L-フェニルグリシン-N-メチルアミド

上記に掲げたMMP阻害薬、TACE阻害薬またはFasL可溶性抑制薬はいずれも各公報に記載された方法によって製造することが可能であり、いずれかの薬剤を単独で、または二種以上の薬剤を組み合わせ使用することも可能である。

【0017】MDSは、不応性貧血(RA)、鉄芽球を伴う不応性貧血(RARS)、芽球の増加を伴う不応性貧血(RAEB)、白血病になりかかっているRAEB(RAEB-t)、慢性骨髄単球性白血病(CMMoL)の5つの疾患群に分類されるが、本発明のMDS治療薬は特にRA、RARSおよびRAEB等で認められる血球減少症に対して好適に使用される。

【0018】本発明のMDS治療薬は経口または非経口で患者に投与される。投与量は、対象とされる症候群、投与方法、患者の年齢、体重または症状等により異なるが、一般に、有効成分であるMMP阻害薬、TACE阻害薬又はFasリガンド可溶性抑制薬に換算して1~600mg/日の範囲が適当であり、これを1日1回、または1日2~4回に分けて投与する。

【0019】剤形としては、経口投与または非経口投与の投与形態に応じて錠剤、顆粒剤、細粒剤、カプセル剤、注射剤、リボソーム等が使用される。

【0020】かかる製剤は常法によって製造され、錠剤、顆粒剤、細粒剤は、有効成分であるMMP阻害薬、TACE阻害薬および/またはFasリガンド可溶性抑制薬と通常の医薬添加物、例えば、乳糖、合成ケイ酸アルミニウム、ブドウ糖、マンニトール、結晶セルロース、でんぷん等の賦形剤、カルボキシメチルセルロース、アルギン酸ナトリウム等の崩壊剤、ステアリン酸マグネシウム、タルク等の滑沢剤、あるいはヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルピロリドン等の結合剤とを混合して製造され、カプセル剤は上記の顆粒剤、散剤を適宜カプセルに充填して製造される。

【0021】注射剤は、有効成分であるMMP阻害薬、TACE阻害薬および/またはFasリガンド可溶性抑制薬を滅菌水に溶解または懸濁し、これにマンニトール、塩化ナトリウム、グルコース、ソルビット、グリセロール、キシリトール、フルクトース、マルトース、マンノース等の等張化剤を加え、要すれば更に亜硫酸ナトリウム、アルブミン等の安定化剤およびベンジルアルコール等の防腐剤を加えて無菌的にアンプルまたはバイアルに封入することによって製造される。

【0022】

【発明の効果】本発明のMDS治療薬は培養した骨髄細

胞のアポトーシスを強く抑制し（下記試験例参照）、特に毒性は認められないのでMDS治療薬として有用である。

#### <試験例>

##### 1. 供試化合物

化合物a：[4-(N-ヒドロキシアミノ)-2(R)-イソブチル-3(S)-メチルサクシニル]-L-フェニルグリシン-N-メチルアミド（特開平7-101925号）

化合物b：[4-(N-ヒドロキシアミノ)-2(R)-イソブチル-3-メチルサクシニル]-L-3-(5, 6, 7, 8-テトラヒドロ-1-ナフチル)アラニン-N-メチルアミド（PCT国際公開公報WO97/9066号）

化合物c：[4-(N-ヒドロキシアミノ)-2(R)-フェニルプロピルサクシニル]-L-フェニルグリシン-N-メチルアミド（PCT国際公開公報WO97/9066号）

化合物d：N<sup>2</sup>-[3(S)-ヒドロキシ-4-(N-ヒドロキシアミノ)-2(R)-イソブチルサクシニル]-L-tert-ロイシン-N<sup>1</sup>-メチルアミド（国際公開公報WO94/02447号）

化合物e：3(S)-N-ヒドロキシ-4-(4-(ピリド-4-イル)オキシ)ベンゼンスルホン-2, 2-ジメチル-テトラヒドロ-2H-1, 4-チアジン-3-カルボキサミド（国際公開公報WO97/\*

\*20824号）

#### 【0023】2. 試験方法

MDS患者の骨髓より骨髓穿刺針を用いて骨髓液をヘパリン存在下に採取し、比重遠心法により骨髓有核細胞を分離して、10%牛胎児血清添加RPMI-1640培養液（抗生物質としてペニシリンとストレプトマイシンを含有する）に $1 \times 10^5$ /mLの濃度で浮遊させた。供試化合物をジメチルスルホキシド（DMSO）で10mMの濃度に溶解し培養液にて希釈して、最終濃度が10又は20 $\mu$ Mの濃度になるよう調製して添加した。培養は炭酸ガス培養器（5%炭酸ガス、95%室内大気）を用いておこなった。培養18時間後に浮遊細胞用遠心器を用いてサイトスピン塗抹標本を作製し、十分乾燥させた後、ペーリンガーマンハイム社製細胞死検出キット（in situ cell death detection kit）を用いてエンドラベリング法（in situ end labelling法）でアポトーシス細胞を染色し、光学顕微鏡下にアポトーシス細胞の判定をした。すべての実験において、少なくとも500個以上の細胞を観察し、薬物無添加群に対する供試化合物添加群のアポトーシス細胞の割合（%）を算定した。アポトーシス誘導に対する抑制効果はペアードt-テスト（paired t test）にて判定した。

#### 3. 試験結果

試験結果を表1に示す。

#### 【0024】

##### 【表1】

供試化合物	アポトーシス細胞の割合 (平均値 $\pm$ SD %)	供試化合物濃度 ( $\mu$ M)	例数 (n)
供試化合物a	10.4 $\pm$ 5.7 *	20	n=6
供試化合物b	13.1 $\pm$ 6.2 *	20	n=6
供試化合物c	21.8 $\pm$ 9.7 *	10	n=4
供試化合物d	31.2 $\pm$ 15.5 *	10	n=4
供試化合物e	21.7 $\pm$ 7.1 *	10	n=4

\*P<0.05

#### 【0025】

【実施例】以下に実施例を挙げて本発明を更に具体的に説明する。

##### 実施例1

##### 錠剤の製造

以下の通り、[4-(N-ヒドロキシアミノ)-2(R)-イソブチル-3(S)-メチルサクシニル]-L-フェニルグリシン-N-メチルアミド（化合物a）100mgを含有する錠剤を得る。

#### 【処方】

成分	配合量
主薬（化合物a）	100重量部
コーンスターチ	46重量部
微結晶セルロース	98重量部
ヒドロキシプロピルセルロース	2重量部
ステアリン酸マグネシウム	4重量部

【操作】主薬、コーンスターチ及び微結晶セルロースを混合し、これに水50重量部に溶解したヒドロキシプロピルセルロースを加えて充分練合する。この練合物を篩に通して顆粒上に造粒して乾燥した後、得られた顆粒にステアリン酸マグネシウムを混合し1錠250mgに打錠する。

#### 【0026】実施例2

##### 顆粒剤の製造

50 以下の通り、N<sup>2</sup>-[3(S)-ヒドロキシ-4-(N

7  
 -ヒドロキシアミノ)-2(R)-イソブチルサクシニ  
 ル]-L-tert-ロイシン-N<sup>1</sup>-メチルアミド(化合  
 物b)200mgを含有する顆粒剤を得る。

【処方】

成 分	配 合 量
主薬(化合物b)	200重量部
乳糖	185重量部
コーンスターチ	109重量部
ヒドロキシプロピルセルロース	6重量部

【操作】主薬、乳糖及びコーンスターチを混合し、これ  
 に水120重量部に溶解したヒドロキシプロピルセル  
 ロースを加えて充分練合する。この練合物を20メッシュ  
 の篩に通して造粒し、乾燥して整粒後500mg宛を分  
 包して顆粒剤を得る。

【0027】実施例3

カプセル剤の製造

以下の通り、1カプセル中にN<sup>2</sup>-[3(S)-ヒドロ  
 キシ-4-(N-ヒドロキシアミノ)-2(R)-イソ  
 ブチルサクシニル]-L-tert-ロイシン-N<sup>1</sup>-メチ  
 ルアミド(化合物b)100mgを含有するカプセル剤  
 を得る。

\*【処方】

成 分	配 合 量
主薬(化合物b)	100重量部
乳糖	35重量部
コーンスターチ	60重量部
ステアリン酸マグネシウム	5重量部

【操作】上記の各成分を充分混合して、この混合末の2  
 00mg宛をカプセルに充填してカプセル剤を得る。

【0028】実施例4

注射剤の製造

10 [4-(N-ヒドロキシアミノ)-2(R)-イソブチ  
 ル-3(S)-メチルサクシニル]-L-フェニルグリ  
 シン-N-メチルアミド0.5重量部およびソルビット  
 5重量部の混合物に注射用蒸留水を加えて溶解し、10  
 0重量部とし、この水溶液をメンブランフィルターで濾  
 過する。濾液を窒素置換したアンプルに5gずつ充填  
 し、溶閉後、120℃で15分間滅菌処理して1アンプル  
 中に[4-(N-ヒドロキシアミノ)-2(R)-イ  
 ソブチル-3(S)-メチルサクシニル]-L-フェニ  
 ルグリシン-N-メチルアミド25mgを含有する注射  
 剤を得る。

\*

フロントページの続き

(72)発明者 有村 光生

鹿児島市下荒田4丁目32番18号(森永方1  
 F)